

MODULARIO
L. 28.1.191



Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

REC'D 01 DEC 2003

WIPO

PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:

Invenzione Industriale

N. BO2002 A 000544



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

IT/03/514

12 NOV. 2003

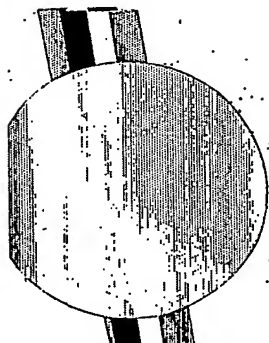
oma, li

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

IL DIRIGENTE

Paola Giuliano

Dr.ssa Paola Giuliano



BEST AVAILABLE COPY

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

MODULO A

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione CEREALTOSCAN S.P.A. ISPI
 Residenza FUCECCHIO (FI) codice 01305730481
 2) Denominazione _____
 Residenza _____ codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome MODUGNO Corrado e altri cod. fiscale _____
 denominazione studio di appartenenza STUDIO TORTA S.R.L.
 via Viotti n. 0009 città TORINO cap 10121 (prov) TO

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/ci/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____

USO DI FARINE VEGETALI COME AGENTI BIOTOSSICI AD AZIONE AMMENDANTE.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) LAZZERI Luca 3) MANICI Luisa M.
 2) LEONI Onofrio 4) PALMIERI Sandro

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione tipo di priorità numero di domanda data di deposito allegato S/R

1) _____
 2) _____

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) 2 PROV n. pag. 20 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
 Doc. 2) 2 PROV n. tav. 00 disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
 Doc. 3) 1 RIS lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale
 Doc. 4) 1 RIS designazione inventore
 Doc. 5) 1 RIS documenti di priorità con traduzione in italiano
 Doc. 6) 1 RIS autorizzazione o atto di cessione
 Doc. 7) 1 nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

8) attestati di versamento, totale Euro Centottantotto/51

obbligatorio

COMPILATO IL 23 08 2002 FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

CONTINUA SINO NO

MODUGNO Corrado

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SINO SI

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. AGR. DI BOLOGNA

codice 37

VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA B02002A 000544 Reg. A

L'anno duemiladue, il giorno ventite, del mese di agosto

Il (I) richiedente (I) sopraindicato (I) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 01 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopra riportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

NESSUNA

timbro dell'ufficio

10,33 - Euro

L'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

FOGLIO AGGIUNTIVO n. 01 di totali 01

DOMANDA N. BO2002A 000544

GIUNTA MODULO A
REG. A

A. RICHIEDENTE (I)

		N.A.
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione	
<input type="checkbox"/>	Residenza	codice

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome	cognome nome
Q 5 PATALANO Gianpiro	

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE	
Data	N° Protocollo

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

MODUGNO Corrado

SPAZIO RISERVATO ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA B02002A 000544 REG. A

DATA DI DEPOSITO 23 / 08 / 2002

DATA DI RILASCIO / /

A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

CEREALTOSCANA S.P.A.

Residenza

FUCECCHIO (FI)

D. TITOLO

USO DI FARINE VEGETALI COME AGENTI BIOTOSSICI AD AZIONE AMMENDANTE.

Classe proposta (sez./cl./scl)

 / /

(gruppo/sottogruppo)

 / /

L. RIASSUNTO

Uso di farine di semi vegetali, in particolare farine di Brassicaceae, come agenti citotossici ad azione ammendante.

CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA
ARTIGIANATO E AGRICOLTURA DI BOLOGNA

VISTO: L'Ufficiale Regante

Dantea Mangelli

M. DISEGNO



MODUGNO CORRADO

Iscrizione Albo N. 633

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359

BO2002A 000544

D E S C R I Z I O N E

del brevetto per invenzione industriale

di CEREALTOSCANA S.P.A.

di nazionalità Italiana,

con sede a 50054 FUCECCHIO (FI)

VIA PISTOIESE, 43

Inventori: LAZZERI Luca; LEONI Onofrio;

MANICI Luisa M.; PALMIERI Sandro; PATALANO Giampiero

La presente invenzione è relativa ad un uso di farine di semi come agenti ammendanti del terreno, come agenti citotossici per patogeni e parassiti del terreno, come agenti fungitossici per patogeni fungini del terreno.

In campo agricolo è noto utilizzare il bromuro di metile per limitare la crescita di patogeni fungini, nematodi, elateridi, insetti, batteri e malerbe. Tuttavia, il bromuro di metile presenta un impatto ambientale relativamente elevato, perché reagendo con l'ozono presente nella fascia alta dell'atmosfera lo trasforma in Br_2O , contribuendo alla distruzione dell'ozono stesso.

Recentemente, per sostituire il bromuro di metile, sono state proposte molecole di origine vegetale ad attività citotossica per patogeni e parassiti del

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359

terreno. Fra queste molecole, sono stati proposti dei derivati di glucosinolati (GLs) generati per idrolisi catalizzata dall'enzima mirosinasi (MIR) o per termolisi. I GLs sono composti tioglucosidici anionici presenti in quantità e rapporti variabili in una pluralità di organismi e tessuti vegetali. La struttura molecolare dei circa 120 GLs attualmente isolati e caratterizzati è contraddistinta da un gruppo funzionale comune e da una catena laterale che può essere di tipo alifatico, aromatico o eteroaromatico.

I GLs, in presenza dell'enzima MIR (tioglucoside glucoidrolasi, EC 3.2.3.1), sono idrolizzati con formazione di β -D-glucosio, ione solfato ed una pluralità di derivati quali isotiocianati, nitrili o tiocianati (si veda, per esempio, Tookey H. L., Van Etten C. H., Daxembichler M. E., *Toxic Constituent of Plant Foodstuffs*, edited by I. E. Liner, 1980, II edizione, 4, 103-142).

Alcuni dei summenzionati derivati dei GLs, in particolare gli isotiocianati, hanno dimostrato in vitro proprietà citotossiche verso nematodi (si veda Lazzeri L., Tacconi R., Palmieri S., *In Vitro Activity of Some Glucosinolates and Their Reaction Products toward a Population of the Nematode Heterodera schachtii*, *J. Agric. and Food Chem.* 1993, 41, 825-829)

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359

e patogeni fungini delle piante presenti nel terreno (si veda, per esempio, Manici L.M., Leoni O., Lazzeri L., Galletti S., Palmieri S., Fungitoxic Activity of Some Glucosinolate Enzyme Derived Products Against the Main Soil-Borne Pathogens, *Pesticide Science*, **1999**, 55, 486-488; e Manici , Lazzeri, Palmieri, In Vitro Fungitoxic Activity of Some Glucosinolates and their Enzyme-derived Products toward Plant Pathogenic Fungi, *J. Agric. and Food Chem.* **1997**, 45, 2768-2773).

Per ottenere ed utilizzare i summenzionati derivati dei GLs sono necessari procedimenti d'estrazione e/o produzione, i quali sono relativamente complessi e costosi e possono causare anche problemi ambientali (ad esempio smaltimento dei sottoprodotti e/o dei solventi utilizzati). Inoltre, generalmente, i derivati dei GLs sono relativamente difficili da maneggiare dal momento che presentano una volatilità relativamente elevata. Per superare questi aspetti negativi è stata proposta la tecnica dei sovesci di piante contenenti sia GLs, sia l'enzima MIR (vale a dire contenenti il sistema GLs-MIR).

La tecnica dei sovesci di piante contenenti il sistema GLs-MIR presenta però alcuni aspetti negativi tipici della tecnica dei sovesci in genere. In particolare, la tecnica dei sovesci richiede operazioni

colturali che determinano costi di manodopera relativamente elevati e causa la perdita di almeno un ciclo di coltivazione, con conseguenti danni per l'agricoltore per mancato reddito.

Scopo della presente invenzione è di fornire un uso di una farina di semi come ammendante del terreno in modo da ridurre gli inconvenienti sopra menzionati in maniera relativamente semplice ed economica.

In accordo con la presente invenzione viene fornito un uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un glucosinolato ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

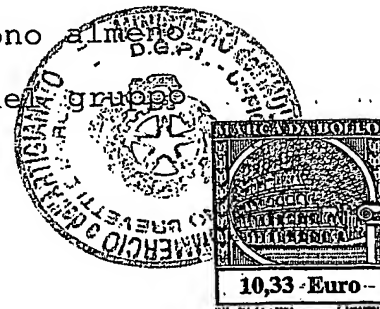
- enzimi glucosidasici, ed
 - enzimi tioglucosidasici;
- come ammendante del terreno.

Scopo ulteriore della presente invenzione è di fornire un uso di una farina di semi come agente citotossico per patogeni e parassiti del terreno.

In accordo con la presente invenzione viene fornito un uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un glucosinolato ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

- enzimi glucosidasici, ed
 - enzimi tioglucosidasici;
- come agente citotossico per patogeni del terreno e

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359



parassiti del terreno.

Scopo ulteriore della presente invenzione è di fornire un uso di una farina di semi come agente fungitossico.

In accordo con la presente invenzione viene fornito un uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un GL ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

- enzimi glucosidasici, ed
- enzimi tioglucosidasici;

come agente fungitossico per patogeni fungini del terreno.

Ulteriori caratteristiche della presente invenzione saranno meglio chiarite dalla descrizione non limitativa che segue.

Semi contenenti GLs ed almeno un enzima glucosidasico o tioglucosidasico, vengono macinati in modo da ottenere una farina fine ed omogenea. Preferibilmente i semi contengono l'enzima MIR e sono semi di *Brassicaceae*, *Capparaceae*, *Koeberliniaceae*, *Moringaceae*, *Resedaceae* e/o *Toviaraceae*.

Di preferenza, i semi utilizzati sono semi di *Brassicaceae* e/o *Capparaceae*, in particolare sono semi di *Brassica Carinata* A. B., semi di *Eruca Sativa* M., e/o semi di *Barbarea Verna*. Inoltre, è importante

sottolineare che è possibile individuare altre varietà vegetali, i cui semi contengono GLs ed un enzima glucosidasico o tioglucosidasico, analizzando i semi mediante metodologie note.

La farina di semi così ottenuta presenta un contenuto variabile di GLs, enzima glucosidasico o tioglucosidasico, materiale proteico e olio a seconda delle varietà vegetali e/o delle condizioni ambientali di coltivazione. Inoltre, è importante sottolineare che al variare delle varietà vegetali utilizzate varia non solo la quantità, ma anche il tipo di GLs contenuti nei semi.

Per ciascuna varietà vegetale possono essere individuate le migliori tecniche di coltivazione (vale a dire ottimizzando, ad esempio, epoca di semina, densità, tipo di terreno e/o agenti concimanti) in modo da ottenere un maggiore contenuto di GLs ed enzima glucosidasico o tioglucosidasico nei semi.

Si noti, inoltre, che, preferibilmente, per incrementare ulteriormente il contenuto di GLs e dell'enzima glucosidasico o tioglucosidasico, le farine di semi sopra descritte vengono disoleate, vale a dire che sono trattate in modo da estrarre almeno parte dell'olio in esse contenuto. L'estrazione viene effettuata preferibilmente ad una temperatura

relativamente bassa, di preferenza inferiore a 75° C, in particolare a temperatura ambiente, in modo che l'enzima glucosidasico o tioglucosidasico non si degradi termicamente e, anche dopo la fase d'estrazione dell'olio, sia ancora in grado di svolgere la sua attività enzimatica. A questo riguardo è importante sottolineare che l'olio estratto può essere utilizzato, ad esempio, come lubrificante o fluido idraulico rinnovabile ed ecologicamente sostenibile.

Le farine, preparate sotto forma di cubetti (pellets), possono essere distribuite sul terreno agrario con relativa facilità ed a costi relativamente bassi. In presenza di acqua, nel terreno si sviluppano derivati dei GLs generati per idrolisi catalizzata dall'enzima glucosidasico o tioglucosidasico. A questo riguardo, è importante sottolineare che al fine di idrolizzare i GLs è necessaria la presenza di acqua, che è un reagente indispensabile all'innesco ed allo sviluppo della reazione biochimica.

Per tale motivo, le farine non idratate sono dotate di una relativamente elevata stabilità, possono essere trasportate con relativa facilità, conservate per periodi relativamente lunghi, ed utilizzate in qualsiasi momento, indipendentemente dalle condizioni ambientali.

Una volta che le farine sono state distribuite sul terreno ed idratate, i derivati dei GLs generati per idrolisi enzimatica sono in grado di svolgere la loro azione citotossica nonostante le farine contengano circa il 50% di proteine. Pertanto, sebbene si potesse temere che gli isotiocianati generati per idrolisi dei GLs, catalizzata dagli enzimi glucosidasici, o più specificatamente dall'enzima tioglucosidasico MIR, interagissero spontaneamente con i gruppi NH₂ liberi delle lisine e delle arginine contenuti nelle proteine, per produrre addotti di natura diversa riconducibili a derivati della tiourea, i prodotti di idrolisi dei GLs liberi sono sorprendentemente ancora in concentrazione sufficiente per svolgere nel terreno una azione ammendante relativamente elevata. I prodotti di idrolisi dei GLs svolgono un'azione fungitossica; in particolare per patogeni fungini del terreno appartenenti a diverse classi tassonomiche (*Oomycetes*: *Pythium* e *Phytophthora*; Funghi sterili: *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani*; *Hyphomycetes*: *Fusarium* spp e *Alternaria* spp.), un'azione citotossica per patogeni e parassiti del terreno, in particolare nematodi, insetti e malerbe. Fra gli insetti, su cui si realizza l'azione citotossica, particolarmente interessante è l'attività citotossica verso gli

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359



elateridi. Inoltre, è particolarmente interessante l'attività fungitossica nei confronti dei funghi del genere *Fusarium*.

È importante sottolineare che l'uso delle farine permette di sfruttare concentrazioni di GLs sostanzialmente impossibili da raggiungere con la tecnica dei sovesci.

Si noti che è possibile utilizzare sia una farina di semi di un'unica varietà vegetale, sia una miscela di farine di semi di una pluralità di varietà vegetali. In particolare, le varietà di cui usare i semi possono essere scelte in modo tale da creare formulati di farine con diverse modalità di azione, in funzione della necessità di persistenza o volatilità dei derivati dei GLs e della azione citotossica richiesta. Infatti, entrambe le caratteristiche (volatilità ed azione citotossica) possono variare in funzione del tipo di patogeno o parassita e della fase in cui esso si trova: vegetante (come micelio) o in fase di conservazione (sclerozio, oospora, clamidospora o micelio svernante). Pertanto, in funzione delle modalità di applicazione (tempi e tipi di coltura), del/i patogeno/i e/o parassita/i obiettivo/i (target) e delle necessità di ammendamento, le composizioni dei formulati potranno essere variate. In tal modo è anche

possibile ottenere formulati per il controllo di patogeni e parassiti tellurici. Inoltre, è possibile utilizzare le farine sopra descritte anche in combinazione con altri composti, che a loro volta possono essere sia d'origine sintetica che naturale.

Ulteriori caratteristiche della presente invenzione risulteranno chiare dalla descrizione di alcuni esempi meramente illustrativi e non limitativi. In particolare, benché gli esempi che seguono si riferiscano all'utilizzo di farine di semi di *Brassica carinata* A.B, *Eruca sativa* M. e *Barbarea Verna* come agenti fungitossici, le farine utilizzabili a tale scopo sono tutte quelle contenenti GLs e un enzima glucosidasico o tioglucosidasico (in particolare MIR). Inoltre, le farine contenenti GLs e un enzima glucosidasico o tioglucosidasico (in particolare MIR) possono essere utilizzate anche come agenti citotossici per altri patogeni e parassiti del terreno.

È importante sottolineare che i risultati esposti negli esempi qui di seguito riportati possono variare in termini quantitativi, ma non qualitativi, a seconda delle varietà vegetali e delle condizioni ambientali in cui i semi vengono prodotti.

Esempio 1

Questo esempio descrive una metodologia per ottenere

farine di semi di *Brassica carinata* A.B, *Eruca sativa* M. e *Barbarea verna*.

Semi di *Brassica carinata* A.B, *Eruca sativa* M. e *Barbarea verna* sono stati puliti e poi macinati separatamente con normale macchina laminatrice fino ad ottenere farine fini ed omogenee. Le farine, ciascuna separatamente dalle altre, sono state disoleate con n-esano (Carlo Erba®) in concentrazione 1:10 (peso/volume), ponendo la sospensione in agitazione per 12 ore a temperatura ambiente. Le farine, ciascuna separatamente dalle altre, sono state filtrate su carta (Filtro Omniafiltra Supervelox, Cartiera del Torano SpA, Napoli), lavate ripetutamente ancora con n-esano e poste in ambiente ventilato a temperatura ambiente per 24 ore in modo da eliminare ogni residuo di solvente.

Esempio 2

Questo esempio descrive una metodologia di analisi per determinare il contenuto di GLs e l'attività mirosinasi in farine di semi.

Ciascuna farina, che è stata ottenuta come descritto nell'esempio 1, è stata analizzata per determinare il contenuto in GLs, utilizzando la procedura disposta dal regolamento dell'Unione Europea 1864/90 per l'analisi dei semi di colza (Official Journal of the European Communities, L 170, 03/07/1990, p. 0027-0034).

L'analisi è stata effettuata con tecnica HPLC (Cromatografia Liquida ad Alta Prestazione, High Performance Liquid Chromatography), utilizzando un Cromatografo Hewlett Packard® Mod. 1090L con rilevatore (detector) a diodi ($\lambda = 229 \text{ nm}$) e una colonna HP ODS Hypersil C18, $5 \mu\text{m}$ $200 \times 4.6 \text{ mm}$. La fase mobile era costituita da una miscela d'acqua ed acetonitrile con un gradiente da 1% a 22% d'acetonitrile in 22 minuti e con un flusso di 2 ml/min . La temperatura della colonna era di 35°C .

Inoltre, nelle stesse farine è stata anche quantificata l'attività mirosinasi totale con il saggio al pH-stat (Palmieri S., Iori R., Leoni, O. Comparison of Methods for Determining Myrosinase Activity, J. Agric. Food Chem. **1987**, 35, 617-621). Le analisi sono state ripetute tre volte ed hanno portato, dopo il calcolo delle medie e delle deviazioni standard, ai risultati riportati nella Tabella I.

Tabella I

Farine	Contenuto in GLs ($\mu\text{moli g}^{-1} \text{ TQ}$)	GL prevalente	Attività Mirosinasi (U g^{-1})
<i>B. carinata</i>	141.6 ± 4.8	Allyl GL (Sinigrina)	34.7 ± 0.4
<i>E. sativa</i>	161.1 ± 2.1	4-Metiltiobutil	53.3 ± 4.2



		GL (Glucoerucina)	
<i>B. verna</i>	143,7 ± 0.6	Fenil-etil GL (Nasturtina)	2.4 ± 0.5

Dai dati riportati nella Tabella I si evince che dopo macinazione ed estrazione con *n*-esano a freddo, nelle farine sono presenti i GLs e l'enzima MIR in forma attiva. Pertanto le farine disoleate di semi di *Brassica carinata* A.B, *Eruca sativa* M. e *Barbarea Verna* contengono il sistema GLs-MIR, e quindi, in presenza di acqua, sono in grado di produrre derivati di GLs generati per idrolisi enzimatica via MIR.

La metodologia di analisi sopra descritta può essere utilizzata per individuare le varietà vegetali nei cui semi è presente il sistema GLs-MIR.

Esempio 3

Questo esempio descrive una metodologia per valutare l'attività fungitossica

Il test di attività fungitossica è stato svolto a partire da un isolato di *Fusarium culmorum*, isolato e identificato come da Manici M.L. e Cerato C. (1992) - Studio su alcuni funghi agenti di marciume dei tuberi di patata; Informatore Fitopatologico 9: 41-46, e riferimenti in esso citati. Questo isolato è catalogato

come fungo test presso la micoteca dell'Istituto Sperimentale per le Colture Industriali (Bologna) ed è stato scelto per la stabilità e regolarità di crescita che lo caratterizzano.

La prova ha previsto la valutazione della tossicità dei composti volatili liberati dalle farine in seguito a idratazione.

Sono state saggiate separatamente le dosi: 0,01 g, 0,025 g, 0,05 g, 0,25 g e 1 g di farina di semi di *Brassica carinata*, *Eruca sativa* e *Barbarea verna*. Il controllo, inserito per la valutazione della attività fungitossica, era costituito da cubetti di ammendanti organici commerciali a base di pollina e cuoio torrefatto.

Il saggio si è basato sulla valutazione della riduzione di crescita delle colonie di *Fusarium culmorum* in presenza dei prodotti liberati dalle farine in seguito a idratazione, rispetto alla crescita dello stesso fungo in presenza del controllo.

Dischetti di colonia di 4 mm prelevati da una colonia di *Fusarium culmorum* di una settimana, sono stati inoculati su un fondo di piastra Petri su substrato nutritivo agarizzato (Potato Dextrose Agar) e subito dopo capovolti su un fondo di piastra Petri contenente il controllo e, separatamente, le farine ai

MODUGNO CORRADO
Irradiazione Albo N. 359

diversi dosaggi (in un volume totale di circa 174 cm³). I due fondi di piastre Petri così uniti sono stati sigillati con parafilm, e le piastre risultanti incubate per un tempo necessario a che la colonia su controllo si sviluppasse ad invadere almeno $\frac{3}{4}$ della piastra. A questo punto, sono state effettuate le misurazioni dei diametri delle colonie cresciute in presenza dei vapori liberati ai diversi dosaggi di farine e del controllo.

L'attività fungitossica delle farine è stata espressa come efficacia d'inibizione (EI) percentuale rispetto al controllo, utilizzando la formula : $EI (\%) = \frac{[(\text{Diametro del Controllo} - \text{Diametro del Trattato}) / \text{Diametro Controllo}] \times 100}{1}$.

In tabella II vengono riportati i risultati della prova.

La prova è stata impostata con tre repliche per trattamento, quindi i dati riportati in tabella II sono le medie di tre valori.

Tabella II

Trattamento	Dose	EI %
Farina disoleata	(g/piastra)	

<i>Eruca sativa</i>	0.01	81
	0.025	100
	0.05	100
	0.25	100
	1	100
<i>Brassica carinata</i>	0.01	72
	0.025	100
	0.05	100
	0.25	100
	1	100
<i>Barbarea verna</i>	0.01	40
	0.05	100
	0.25	100
	1	100

Da quanto sopra esposto si evince che i prodotti liberati dalle farine di semi di *Brassica carinata* A. B., di *Eruca sativa* M., e di *Barbarea verna*, in seguito ad idratazione, che attiva il sistema GLs-MIR in esse presente, inibiscono in maniera relativamente elevata la crescita del fungo *Fusarium culmorum*.

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359



R I V E N D I C A Z I O N I

1.- Uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un glucosinolato ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

- enzimi glucosidasici, ed
 - enzimi tioglucosidasici;
- come ammendante del terreno.

2.- Uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un glucosinolato ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

- enzimi glucosidasici, ed
 - enzimi tioglucosidasici;
- come agente citotossico per patogeni del terreno e parassiti del terreno.

3.- Uso di una farina di semi, i quali contengono almeno un glucosinolato ed almeno un enzima scelto nel gruppo consistente in:

- enzimi glucosidasici, ed
 - enzimi tioglucosidasici;
- come agente fungitossico per patogeni fungini del terreno.

4.- Uso secondo la rivendicazione 2, in cui i detti parassiti del terreno sono scelti nel gruppo consistente in:

- nematodi; ed

- elateridi.

5.- Uso secondo la rivendicazione 2, in cui i detti parassiti del terreno sono scelti nel gruppo consistente in:

- malerbe; ed
- insetti.

6.- Uso secondo la rivendicazione 3, in cui le dette farine svolgono una azione fungitossica nei confronti di funghi del genere *Fusarium* ed altri funghi.

7.- Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui i semi sono scelti nel gruppo di semi consistente in:

- semi di *Brassicaceae*;
- semi di *Capparaceae*;
- semi di *Koeberliniaceae*;
- semi di *Moringaceae*;
- semi di *Resedaceae*; e
- semi di *Toviaraceae*.

8.- Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui i semi sono semi di *Brassicaceae*.

9.- Uso secondo una delle rivendicazioni dalla 1 alla 7, in cui i semi sono semi di *Capparaceae*.

10.- Uso secondo una delle rivendicazioni dalla 1 alla 7, in cui i semi sono stati scelti nel gruppo consistente in:

- semi di *Brassica carinata* A. B.;
- semi di *Eruca sativa* M.; e
- semi di *Barbarea verna*.

11.- Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui le dette farine di semi sono state sottoposte a disoleazione.

12.- Uso secondo la rivendicazione 11, in cui la disoleazione è stata effettuata ad una temperatura inferiore ai 75° C.

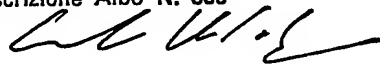
13.- Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui i semi sono di almeno due varietà vegetali differenti.

14.- Uso secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui il detto enzima è l'enzima mirosinasi.

p.i. CEREALTOSCANA S.P.A.

MODUGNO CORRADO

Iscrizione Albo N. 359




CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA
AGRICOLTURA
BOLOGNA
UFFICIO BREVETTI
E FUNZIONARIO

MODUGNO CORRADO
Iscrizione Albo N. 359

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.